



TITLE:

# 分裂酵母テロメア因子Stn1のテロメアおよびサブテロメア複製における役割( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

滝川, 雅大

---

CITATION:

滝川, 雅大. 分裂酵母テロメア因子Stn1のテロメアおよびサブテロメア複製における役割. 京都大学, 2017, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2017-01-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20100>

RIGHT:

許諾条件により本文は2017-12-21に公開

京都大学	博士（生命科学）	氏名	滝川雅大
論文題目	分裂酵母テロメア因子 <b>Stn1</b> のテロメアおよびサブテロメア複製における役割		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>本論文は、第一章 序論、第二章 材料と方法、第三章 結果、第四章 考察から構成されている。第一章では、真核生物テロメアがゲノムDNA末端保護とテロメアDNAの複製のふたつの重要な役割を果たしていることが述べられた後、本研究で解析されているテロメア結合蛋白質<b>CST</b>複合体に関する既知の事実と未解決であった問題点が述べられている。第二章において本研究で用いられた実験材料・手法が述べられた後、第三章で具体的な実験結果が記載され、第四章において本研究の意義と今後の展望が述べられている。</p> <p><b>CST</b>複合体（<b>Ctc1/Cdc13-Stn1-Ten1</b>複合体）は、初め出芽酵母において発見され研究が進んでいた（<b>Cdc13-Stn1-Ten1</b>複合体）。その結果、出芽酵母<b>CST</b>は、テロメアDNA末端の保護と、半保存的DNA複製およびテロメラゼ反応からなるテロメアDNA合成機構の制御という二つの重要な役割を果たしていることが知られている。その後、ヒトを含めた脊椎動物および植物において<b>CST</b>複合体が発見され（<b>Ctc1-Stn1-Ten1</b>複合体）、その機能解析が進んでいるが、これらが出芽酵母<b>CST</b>複合体と同じ機能を果たしているかどうかは未だ十分に明らかにされていなかった。そこで、申請者は分裂酵母における当該複合体機能を解明し、多くの生物種にわたって保存されている<b>CST</b>複合体に共通する機能を明らかにすることを目的として、本研究が開始されたことが述べられている。特に、1）<b>CST</b>複合体のうちのC因子が、出芽酵母では<b>Cdc13</b>であるのに対して、脊椎動物・植物では<b>Cdc13</b>とアミノ酸配列が必ずしも類似していない<b>Ctc1</b>であること、2）分裂酵母ではS因子<b>Stn1</b>とT因子<b>Ten1</b>は他種とよく保存された<b>Stn1</b>, <b>Ten1</b>ホモログ蛋白質が同定されているのに対して、C因子に相当する蛋白質がいまだ未同定であることから、分裂酵母<b>Stn1-Ten1</b>（以下<b>ST</b>複合体）の機能を解析することで、様々な<b>CST</b>複合体に共通する生物学的機能を明らかにできる可能性があることが指摘されている。</p> <p>分裂酵母<b>ST</b>複合体をコードする<b>stn1</b>遺伝子と<b>ten1</b>遺伝子は必須遺伝子であるため、申請者はまず<b>stn1</b>遺伝子の温度感受性変異体<b>stn1-1</b>を同定し、<b>Stn1-1</b>は、229アミノ酸からなる<b>Stn1</b>蛋白質において<b>I177M</b>、<b>M180I</b>のふたつのアミノ酸置換をもたらす点突然変異を有していることを明らかにした。<b>stn1-1</b>細胞は、25℃の許容温度では増殖するものの、36℃の非許容温度では増殖できないことを示し、特に、<b>stn1-1</b>細胞の培養温度を25℃から36℃に変えると、テロメアDNA配列が短小化することなく失われることを見出した。この原因を明らかにするために、申請者は一連の実験を行い、分裂酵母<b>ST</b>複合体は、サブテロメア領域におけるDNAの半保存的複製に必要で、<b>stn1-1</b>を非許容温度で培養するとサブテロメア領域における複製フォークの停止によってテロメア配列およびサブテロメア配列の欠失が生じることを明らかにした。興味深いことに、このような複製フォークの停止はサブテロメアにおいて異常構造をもつ複製フォークやDNA二重鎖切断をもたらすことが期待されるにも関わらず、<b>stn1-1</b>においては、テロメアやサブテロメアの消失が見られる時期においてもDNA損傷チェックポイントや複製チェックポイントの活性化が起こらないことを示している。以上の結果から、申請者は、分裂酵母<b>ST</b>複合体は出芽酵母<b>CST</b>複合体と異なり、テロメア保護よりもテロメアおよびサブテロメアのDNA複製に必要な役割を一義的に果たしていると結論づけている。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

原核生物と異なり、真核生物は線状ゲノムDNAを持つことを特徴としている。この結果、真核生物は有性生殖を行うことが可能となり、複雑な体制を獲得できたと考えられている。線状ゲノムDNAの末端部分はテロメアDNA配列と結合蛋白質からなる特徴的なクロマチン構造を形成し、これはテロメアと呼ばれている。テロメアは、テロメアおよびその近傍領域サブテロメアのDNA複製を保証する一方で、ゲノムDNA末端がDNA末端結合などのDNA修復の基質とならないように保護するふたつの大きな役割を果たしている。現在、DNA複製と末端保護がどのようなテロメア局在蛋白質によって果たされているのかが精力的に検討されているが、まだ完全な理解には至っていない。特に、同じ真核生物であっても、出芽酵母と分裂酵母・ヒトを含むその他の生物種では、テロメアDNA、結合蛋白質の種類に差が見られ、出芽酵母で得られた結論がそのまま他の生物種に当てはめることには慎重さが求められる。

CST複合体は、出芽酵母を含めて多くの真核生物に保存されたテロメアDNA結合蛋白質複合体である。申請者は本研究において、いまだ不明な点の多い分裂酵母ホモログST複合体(分裂酵母ではCSTを構成するC, S, Tの3因子のうちC因子に相当する蛋白質が未同定)の機能を解析するために、S因子Stn1をコードするstn1遺伝子の温度感受性変異体を取得し、それを用いたST複合体機能欠損の直接および間接的な表現型を遺伝学、細胞生物学、生化学的手法を駆使して明らかにした。その結果、従来提唱されていた仮説とは異なり、ST複合体は末端保護にはあまり寄与せず、テロメアDNA複製に重要な働きをすることを発見した。これは、これまでの定説を覆す重要な発見である。また、ST複合体失活によるテロメアおよびサブテロメア配列の欠損は直ちにはDNA損傷チェックポイントの活性化をもたらさないことを一連の周到な実験によって証明している。さらに、stn1-1の遺伝的抑圧を指標にして、stn1がrif1遺伝子(脱リン酸化酵素のリルートによってDNA複製のタイミングを決めていることが知られている)とpmt3遺伝子(蛋白質修飾に関わるSUMOペプチドをコードしている)と遺伝的な相互作用をもつことを示している。この遺伝学的相互作用がどのような生化学的経路によってもたらされるのかは本研究では明らかにされていないが、この知見は、将来、CST複合体のより詳細な機能を解析する上で重要な手がかりを提供するものと期待される。

以上のように、本研究はテロメア研究領域におけるCST複合体に関する定説を覆し、分裂酵母ST複合体の機能をはじめ詳細に解析したばかりでなく、真核生物に広く保存されているCST複合体が生物種分化の過程において、どのようにその機能を変化させたのかを考える上で重要な知見を提供している。従って、本論文では生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見および概念が、論理的かつ一貫性をもって記述されていると判断される。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認められた。また、平成28年12月7日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、申請者は生命科学に関する高度で幅広い知識、専攻分野における優れた研究能力を有していることを確認したので、本博士論文を合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日：                      年                      月                      日